Panel hepático Plus Piccolo®

CE

Para uso diagnóstico *in vitro* y uso profesional exclusivamente
Servicio y asistencia técnica al cliente: 800-822-2947
Para solicitar el servicio de asistencia al cliente, los clientes residentes fuera de EE.UU. deben ponerse en contacto con su representante local de Abaxis

Aplicable solamente a los clientes de EE.UU.
Exoneración de la CLIA: Usar únicamente sangre entera tratada con heparina-litio
Complejidad moderada: Usar sangre entera anticoagulada con heparina-litio, plasma tratado con heparina litio o suero

Febrero 2014
PN: 400-7060 Rev.: R
© 1998, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El panel hepático Plus Piccolo®, usado con el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress™, utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de alanina aminotransferasa, albúmina, fosfatasa alcalina, amilasa, aspartato aminotransferasa, gamma-glutamiltransferasa, bilirrubina total y proteínas totales en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care.

Solamente para clientes de EE.UU.

Los análisis de este panel están exonerados según los requisitos de CLIA '88. Si un laboratorio modificara las instrucciones del sistema de análisis, los análisis se considerarían de alta complejidad y quedarían sujetos a todos los requisitos de la CLIA. En los laboratorios exonerados según la CLIA, sólo puede analizarse sangre entera tratada con heparina-litio. En laboratorios de complejidad moderada, pueden utilizarse sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero.

Se necesita un certificado de exoneración de la CLIA para realizar análisis exonerados por la CLIA. Un certificado de exoneración puede obtenerse de CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services). Si necesita ayuda para obtener este certificado, diríjase a la comisión de acreditación de laboratorios (COLA), en el teléfono 1-800-981-9883.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El panel hepático Piccolo y el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress son un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades:

Alanina aminotransferasa:	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis; cardiopatías
Albúmina:	Patologías del hígado y del riñón
Fosfatasa alcalina:	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroideas e intestinales
Amilasa:	Pancreatitis
Aspartato aminotransferasa:	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral, shock
Gamma-glutamiltransferasa:	Hepatopatías, incluidas la cirrosis hepática y tumores hepáticos primarios y secundarios
Bilirrubina total:	Hepatopatías, incluida la hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia
Proteínas totales:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición

3. Principios de la prueba

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) fue medida por tres métodos. Dos de estos métodos; la técnica de acoplamiento colorimétrico con dinitrofenilhidrazina[1,2] y el análisis enzimático fluorescente, rara vez son utilizados.[3] Un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue[4] es la técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero. La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha propuesto como método recomendado un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado.[5]

El método desarrollado para usar en el analizador Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es el mismo que el recomendado por el IFCC, pero ejecutado a una temperatura mayor. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+, como se muestra en el esquema siguiente de la reacción.

$$\text{L-Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH a NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Albúmina (ALB)
Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluyen técnicas de fraccionamiento [6,7,8] y el contenido en tritofano de las globulinas.[9,10] Estos métodos son difíciles de utilizar y no tienen una especificidad elevada. Dos técnicas inmunoquímicas se consideran como métodos de referencia, pero son caras y requieren mucho tiempo.[11] Las técnicas de tinción son los métodos usados con mayor frecuencia para el análisis de la albúmina. El verde de bromcresol (BCG) es el método de tinción usado con mayor frecuencia, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, especialmente en los límites inferiores de los rangos normales.[12] La púrpura de bromcresol (BCP) es la más específica de las tinturas en uso.[13, 14]

La púrpura de bromcresol, al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

$$\text{BCP} + \text{Albúmina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complejo BCP-Albúmina}$$

La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)
Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, a algunos de estos métodos espectrofotométricos de criterio de valoración o de dos puntos[15, 16] se los considera obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción.[17, 18] La fiabilidad de esta técnica aumentó de manera considerable con el uso de un amortiguador de ión metálico para mantener la concentración de iones de magnesio y zinc en la reacción.[19] El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)[20] usa el *p*-NPP como sustrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento Piccolo es modificado por los métodos AACC20 e IFCC.[21] La fosfatasa alcalina hidroliza el *p*-NPP en un amortiguador con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.

$$\textit{p}\text{-Nitrofenil fosfato} \xrightarrow[Zn^{2+},\ Mg^{2+}]{\text{ALP}} \textit{p}\text{-Nitrofenol} + \text{fosfato}$$

La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Amilasa (AMY)
Se desarrollaron 200 pruebas distintas para medir la amilasa. La mayoría de los procedimientos usan una solución polisacárida, pero emplean técnicas de detección distintas. Los métodos viscosimétricos carecen de precisión y exactitud,[22] mientras que los métodos turbidimétricos y iodométricos son difíciles de estandarizar.[23,24] Los métodos usados con mayor frecuencia son sacarogénicos y cromolíticos. La técnica "clásica" de medición de la amilasa es un método sacarogénico[25], pero es difícil y exige demasiado tiempo.[26] Los métodos cromolíticos que utilizan *p*-nitrofenilglucósidos como sustratos fueron desarrollados recientemente.[27] Estos análisis tienen mayor especificidad por la amilasa pancreática que por la salival y se controlan con facilidad.[27]

En el método Piccolo, el sustrato 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriosida (CNPG3), reacciona con la α-amilasa en la muestra del paciente liberando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). La liberación del CNP crea un cambio en el color.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-Amilasa}} \text{CNP + D-Maltotriosida}$$

La reacción se mide bicromáticamente a 405 nm y 500 nm. El cambio en la absorbancia debido a la formación de CNP es directamente proporcional a la actividad de la α-amilasa en la muestra.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de velocidad de Karmen[28] modificado por Bergmeyer.[29] El método de referencia actual de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplar malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.[29,30] Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por piruvato endógeno.

El AST cataliza la reacción del L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato + } \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetato + L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato + NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato + } NAD^+$$

El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST en la muestra.

Gamma-Glutamiltransferasa (GGT)
Los primeros métodos cuantitativos desarrollados para medir la gamma-glutamiltransferasa (GGT) precisaban una segunda reacción para formar un colorante azoico que se combinaba con un cromóforo.[39,40] El cambio a L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida como el sustrato en la reacción eliminó el paso de formación del colorante.[41] Debido a la pobre solubilidad y estabilidad de L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida, este procedimiento fue modificado para usar el sustrato L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida.[42] El método GGT recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) se basaba en el último sustrato, con gliciclicina como el otro sustrato.[43]

Abaxis modificó el método IFCC para que reaccione a 37°C. El agregado de una muestra con gamma-glutamiltransferasa a los sustratos L-γ-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida and glicilglicina (gli-gli) causa la formación de L-γ-glutamil-glicilglicina (glu-gli-gli) y 3-carboxi-4-nitroanilina.

$$\text{L-}\gamma\text{-glutamil- + Gli-gli-3-carboxi 4-nitroanilida} \xrightarrow{\text{GGT}} \text{Glu-gli-gli + 3-carboxi-4-nitroanilina}$$

La absorbancia de este índice de reacción se mide a 405 nm. La producción de 3-carboxi-4-nitroanilina es directamente proporcional a la actividad de GGT en la muestra.

Bilirrubina total (TBIL)
Típicamente, los niveles de bilirrubina total fueron medidos por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazoico.[32,44] Se desarrolló un método más moderno y más específico que utiliza la enzima bilirrubina oxidasa.[34,35,36] Además de utilizar el método de prueba de la bilirrubina total, más específico, en el sistema Piccolo se minimiza la fotodegradación del electrolito porque la muestra puede evaluarse inmediatamente después de la recolección.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina es oxidada por la bilirrubina oxidasa en biliverdina. La reacción final es la conversión de la biliverdina en varios componentes púrpura.

$$\text{Bilirrubina + } O_2 \xrightarrow{\text{Bilirrubina oxidasa}} \text{Biliverdina + } H_2O$$

La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

Proteína total (TP)
El método de proteínas totales es una modificación de la reacción de biuret, remarcable por su precisión, exactitud y especificidad.[45] Desarrollada originariamente por Riegler[46] y modificada por Weichselbaum[47], Doumas y otros[48] propusieron una reacción de biuret como posible método de referencia para las proteínas totales.

En la reacción de biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y yoduro de potasio para impedir la precitación de hidróxido de cobre y la autorreducción del cobre, respectivamente.[47] Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre los átomos de oxígeno carbonilo y nitrógeno amida para formar un complejo Cu-proteína coloreado.

$$\text{Proteína total} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{OH^-} \text{Complejo Cu-Proteína}$$

La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

4. Principios del procedimiento

Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para obtener información sobre los principios del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos
Cada disco reactivo del panel hepático Plus Piccolo contiene soportes sólidos específicos para pruebas secas (descritos a continuación). Se incluye un reactivo de referencia de muestra seco (que consta de amortiguador, surfactante, excipientes y estabilizadores) en cada disco para usar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), amilasa (AMY), aspartato aminotransferasa (AST) y gamma-glutamiltransferasa (GGT). Se incluyen en el disco referencias de muestra dedicadas para la bilirrubina total y proteínas totales. Cada disco reactivo contiene también un diluyente líquido que consta de surfactantes, excipientes y estabilizadores.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/disco
Alanina aminotransferasa reactiva	
L-alanina	874 µg
α-ácido cetoglutárico	54 µg
β-nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH)	7 µg
Lactato deshidrogenasa (LDH) (*Staphylococcus epidermidis)*	0,09 U
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	
Albúmina reactiva	
Púrpura de bromcresol, sal sódica	2 µg
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	
Fosfatasa alcalina reactiva	
Cloruro de magnesio	3 µg
Sulfato de zinc	3 µg
p-NPP, sal disódica	56 µg
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/disco
Amilasa reactiva	
CNPG3	40 µg
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	
Aspartato aminotransferasa reactiva	
L-ácido aspártico	426 µg
Lactato deshidrogenasa (LDH) (*Staphylococcus epidermidis)*	0,04 U
β-nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	5 µg
Malato deshidrogenasa (MDH) (corazón porcino)	0,01 U
α-ácido cetoglutárico	28 µg
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	
Gamma-Glutamiltransferasa reactiva	
Glicilglicina	317 µg
Ácido L-glutámico γ-(3-carboxi-4-nitroanilida	30 µg
Amortiguadores, surfactante, excipientes y estabilizantes	
Bilirrubina total reactiva	
Reactivo para enzima de bilirrubina de Beckman	0,1 U
Amortiguador, excipientes y estabilizantes	
Bilirrubina total testigo	
Amortiguador, excipientes y estabilizantes	
Reactivo para proteínas totales	
Potasio sódico tartrato	343 µg
Sulfato cúprico	134 µg
Yoduro de potasio	28 µg
Excipientes y estabilizantes	
Proteína total de referencia	
Potasio sódico tartrato	343 µg
Yoduro de potasio	28 µg
Excipientes y estabilizantes	

Advertencias y precauciones

- El envase del diluyente en el disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un disco con un envase de diluyente abierto. Compruebe que la muestra o la prueba fue colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las buenas prácticas de control de la infección cuando manipule y deseche los discos usados. Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames biopeligrosos.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. No use **nunca** un disco que se haya caído ya que puede derramar substancias biopeligrosas en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso en que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras dejar caer y romper un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

- El reactivo en soporte sólido y el diluyente contienen compuestos nitrogenados sódicos que pueden reaccionar con plomo y cobre para formar compuestos nitrogenados metálicos muy explosivos. Los reactivos no entrarán en contacto con el plomo y cobre si se siguen los procedimientos recomendados. Sin embargo, si los reactivos entran en contacto con los metales, se debe lavar abundantemente con agua para prevenir la acumulación de azida.

Almacenamiento
Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8°C (36-46°F). Para usar los discos de reactivos, retírelos del refrigerador en su envase de papel aluminio sellado. Los discos en su envase sellado pueden mantenerse a temperatura ambiente y de nuevo en el refrigerador varias veces. Asegúrese que el tiempo total en el que los discos se encuentren a temperatura ambiente no exceda de 48 horas. Abra el envoltorio y retire el disco inmediatamente antes de realizar la prueba.

No exponga los discos, dentro o fuera del envoltorio de papel aluminio, a la luz solar directa o a temperaturas por encima de los 32°C (90°F). Se debe usar el disco después de 20 minutos de abierto el envase; un disco en un envase abierto no puede ser colocado de nuevo en el refrigerador para ser utilizado más tarde.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo.
No use un disco:
- después de la fecha de caducidad. Aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress si usa un disco caducado;
- de un envase roto o dañado; o
- si el desecante está rosa, según se observa a través de la tira del paquete dentro del envoltorio del disco.

6. Instrumento

Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Recolección y preparación de las muestras

Las técnicas de recolección de muestras se describen en el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.

- El tamaño mínimo requerido para la sangre es de ~90 µL de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o suero de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µL de muestra.

- Las muestras obtenidas por digitopunción deben ser colocadas en el disco reactivo **inmediatamente** después de obtenerse la muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta el tubo de recolección con suavidad varias veces antes de transferir la muestra. **No** sacuda el tubo de recolección; esto puede provocar hemólisis.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser analizadas dentro de los 60 minutos posteriores a la recolección. Las muestras de sangre entera refrigerada pueden causar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa.**[51] La muestra puede ser separada en plasma o suero y almacenada en tubos de muestra con tapa a 2-8°C (36-46°F) si la muestra no puede ser analizada dentro de los 60 minutos.

- Los resultados de **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación. Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato deberán ser almacenadas en la oscuridad por un máximo de 60 minutos. Si la muestra no puede ser analizada dentro de dicho período, se la puede separar en plasma o suero, y almacenar en un tubo de muestra con tapa en la oscuridad a baja temperatura.[52]

Sustancias conocidas como interferencias
- El único anticoagulante recomendado para usar con el protocolo de prueba del Piccolo es la heparina de litio. Abaxis realizó estudios que demuestran que EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante con iones amoníaco interferirán con, por lo menos, un químico contenido en el Planel hepático Plus Piccolo.

- La **amilasa** es secretada por varias glándulas, así como por el páncreas. Sólo la amilasa pancreática reviste interés clínico.[53] La contaminación de una muestra con amilasa no pancreática provocará resultados artificialmente elevados. Las muestras obtenidas por digitopunción son más propensas a sufrir contaminación que las obtenidas por venopunción. Si los resultados de la amilasa de una muestra obtenida por digitopunción no son acordes a los síntomas clínicos del paciente, repita la prueba con una muestra obtenida por venopunción.

- Puede verse interferencia en la prueba de **proteínas totales** cuando se analizan muestras con una concentración de triglicéridos superiores a 400 mg/dl; pueden mostrar un aumento en el nivel de proteínas totales. El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress elimina todos los resultados que sufren una interferencia por parte de la lipidemia superior al 10%. En lugar del resultado, en la tarjeta de resultados se imprime "LIP".

8. Procedimiento

Materiales necesarios
Consulte el manual del usuario del analizador Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para obtener información sobre cómo ordenar los materiales necesarios para utilizar el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress de acuerdo con el procedimiento recomendado.

- Un disco reactivo con panel hepático Plus Piccolo, PN: 400-1003 (una caja de discos, PN: 400-0003)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress
- Con cada analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress se suministran pipetas de transferencia de muestras (volumen fijo de aproximadamente 100 µL) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

Parámetros de prueba
El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress funciona a temperaturas ambiente entre 15°C y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada Panel hepático Plus Piccolo es inferior a 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a la temperatura de 37°C (98,6°F) a lo largo del intervalo de medición.

Procedimiento de prueba
La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.

Control de calidad
Consulte la Sección 2.4 del manual del usuario Piccolo o la Sección 6 (Calibración y control de calidad) del manual del usuario Piccolo xpress. El rendimiento del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede verificarse por medio de controles. Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para solicitar una lista de los materiales de control de calidad homologados con los límites de aceptación. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles. Los materiales de control de calidad deben almacenarse conforme a las instrucciones del prospecto incluido con los controles.

Si los controles dan resultados fuera de los límites, repita una vez. Si siguen fuera de los límites, llame al servicio de asistencia técnica. Si los controles incumplen los límites de la etiqueta, no utilice sus resultados. Consulte el Manual del usuario Piccolo o Piccolo xpress para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

Laboratorios exonerados: Abaxis recomienda las pruebas de control de la siguiente manera:

- Al menos cada 30 días.
- Siempre que hayan cambiado las condiciones de laboratorio de manera significativa, por ejemplo, traslado del Piccolo a otro lugar o cambios en el control de temperatura.
- Cuando se indique la formación o nueva formación del personal.
- Con cada lote nuevo (análisis exonerados por CLIA en laboratorios en estado exonerado).

Laboratorios no exonerados: Abaxis recomienda que las pruebas de control se hagan conforme a las recomendaciones federales, estatales y locales.

Calibrado
El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress está calibrado por el fabricante antes de su envío al cliente. El código de barras impreso sobre el anillo de código de barras proporciona al analizador datos de calibración específicos para el disco reactivo. Consulte el manual del usuario del analizador Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

9. Resultados

El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress calcula automáticamente e imprime las concentraciones de electrolitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el manual del usuario del analizador de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress. En el manual del usuario analizador químico de sangre Piccolo se detalla también la interpretación de los resultados. Los resultados se imprimen en las tarjetas de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

La reacción para cada sustrato se produce a 37°C (98,6°F).

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se explican en el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es **heparina-litio**. No utilice heparina sódica.

- Se recomienda que las pruebas de **albúmina** se evalúen mediante sangre entera o venosa en vez de sangre entera obtenida por venopunción. Las técnicas de obtención de muestras por digitopunción pueden causar más trauma celular que las de venopunción.

- Las muestras con hematocritos que superan el 62-65% del volumen concentrado de eritrocitos (una fracción de volumen de 0,62 - 0,65) pueden dar resultados falsos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden centrifugarse para obtener plasma y a continuación analizarse de nuevo en un disco reactivo nuevo.

- La **amilasa** es secretada por varias glándulas, así como por el páncreas. Sólo lo amilasa pancreática reviste interés clínico.[53] La contaminación de una muestra con amilasa no pancreática provocará resultados artificialmente elevados. Las muestras obtenidas por digitopunción son más propensas a sufrir contaminación que las obtenidas por venopunción. Si los resultados de la amilasa de una muestra obtenida por digitopunción no son acordes a los síntomas clínicos del paciente, repita la prueba con una muestra obtenida por venopunción.

- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.**

  Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al disco reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo no uniforme, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y varios de los resultados pueden caer fuera de los valores esperados. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada obstáculo potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-A[15].

Efectos de las sustancias endógenas

- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra.

- El sistema químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso "HEM", "LIP" o "ICT", respectivamente.

- Póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

- Asimismo, se ha descubierto que concentraciones de 230 mg/dl de lactato y de 10.000 U/l de lactatodeshidrogenasa no tenían ningún efecto en los análisis realizados en los discos.

Efectos de las sustancias terapéuticas

- Los siguientes compuestos no interfieren de manera significativa con la química del disco reactivo Piccolo. Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al 10% en el resultado para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con concentraciones conocidas de los fármacos o químicos, y luego analizadas.

Sustancias terapéuticas o exógenas	**Concentración con no significativa Interferencia (mg/dl)**	**Rango fisiológico o terapéutico[54-57] (mg/dl)**
Acetaminofeno	100	1-2
Ácido acetilsalicílico	50	2-10
Cloranfenicol	100	1-2,5
Cimetidina	16	0,1-1
Dextrano	300	600-1800
Eritromicina	10	0,2-2,0
Hidroclorotiazida	7,5	—
Isoniacida	4	0,1-0,7
Cetoprofen	50	—
Lidocaína	1	0,15-0,6
Meticilina	100	—
Metotrexato	0,5	0,1
Metronidazol	5	0,1
Nafcilina	1	—
Oxacilina	1	—
Fenitoína	3	1-2
Rifampina	0,5	0,4-3
Ácido salicílico	25	15-30

Las siguientes sustancias mostraron una interferencia superior al 10%. Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al 10% en el resultado para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con concentraciones conocidas de los fármacos o químicos, y luego analizadas.

	Concentración con no significativa Interferencia (mg/dl)	Rango Fisiológico o Terapéutico[54-57] (mg/dl)	Interferencia
Alanina aminotransferasa (ALT)			
Ácido ascórbico	20	0,8-1,2	11% aum.*
Oxaloacetato	132	—	843% aum.
Albúmina (ALB)			
Acetoacetato	102	0,05-3,60	18% dism.*
Ampicilina	30	0,5	12% dism.
Cafeína	10	0,3-1,5	14% dism.
Cloruro de calcio	20	—	17% dism.
Cefalotina (Keflin)	400	10	13% aum.
Ibuprofeno	50	0,5-4,2	28% aum.
α-cetoglutarato	5	—	11% dism.
Nitrofurantoína	20	0,2	13% dism.
Prolina	4	—	12% aum.
Sulfalazina	10	2-4	14% dism.
Sulfanilamida	50	10-15	12% dism.
Teofilina	20	1-2	11% dism.
Fosfatasa alcalina (ALP)			
Teofilina	20	1-2	42% dism.
Bilirrubina total[9] (TBIL)			
Dopamina	19	—	55% dism.
L-dopa	5	—	17% dism.

*aum.=aumento; dism.=disminución

Consulte la bibliografía para obtener información adicional sobre posibles interferencias químicas.

11. Valores esperados

Se analizaron muestras de un total de 193 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre Piccolo, para determinar los rangos de referencia para la alanina aminotransferasa, albúmina, fosfatasa alcalina, amilasa, bilirrubina total y proteínas totales. Se analizaron las muestras de un total de 186 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre Piccolo para determinar los rangos de referencia para aspartato aminotransferasa. Se analizaron las muestras de un total de 131 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre Piccolo para determinar los rangos de referencia para gamma glutamil transferasa.

Estos rangos sólo se ofrecen como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca rangos normales para el área geográfica en la cual usted se encuentra ubicado.

Tabla 2: Rangos de referencia Piccolo

Electrolito	Rango de referencia	
	Unidades comunes	**Unidades SI**
Alanina Aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Varón	53-128 U/l	53-128 U/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Mujer	42-141 U/l	42-141 U/l
Amilasa (AMY)	14-97 U/l	14-97 U/l
Aspartato Aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Gamma-Glutamiltransferasa (GGT)	5-65 U/l	5-65 U/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Proteína total (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l

La **amilasa** es secretada por varias glándulas, así como por el páncreas. Sólo lo amilasa pancreática reviste interés clínico.[53] La contaminación de una muestra con amilasa no pancreática provocará resultados artificialmente elevados. Las muestras obtenidas por digitopunción son más propensas a sufrir contaminación que las obtenidas por venopunción. Si los resultados de la amilasa de una muestra obtenida por digitopunción no son acordes a los síntomas clínicos del paciente, repita la prueba con una muestra obtenida por venopunción.

12. Características de eficacia

Linealidad
La química de cada electrolito es lineal a lo largo del rango dinámico enumerado abajo cuando se opera el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress de acuerdo con los procedimientos recomendados (consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress).

Tabla 3: Rangos dinámicos Piccolo

Electrolito	Rango dinámico	
	Unidades comunes	**Unidades SI**
Alanina Aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5-2.400 U/l	5-2.400 U/l
Amilasa (AMY)	5-4.000 U/l	5-4.000 U/l
Aspartato Aminotransferasa (AST)	5-2.000 U/l	5-2.000 U/l
Gamma-Glutamiltransferasa (GGT)	5-3.000 U/l	5-3.000 U/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-603 µmol/l
Proteína total (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (intervalo dinámico), pero inferior al intervalo del sistema, en la tarjeta impresa se indicarán un signo “>” en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, ALT >2000* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá “<” con un asterisco, por ejemplo, ALT <5* U/l. Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá “~~~” en lugar del resultado. Cada vez que aparezca “~~~” en la tarjeta impresa, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Abaxis.

Especificidad
El límite inferior de detección de cada electrolito es: Alanina amino-transferasa 10 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; amilasa 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; gamma-glutamiltransferasa 5 U/l; bilirrubina total 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); y proteína total 2 g/dl (20 g/l).

Precisión
Se realizaron estudios de precisión con las recomendaciones NCCLS EP5-T2.[60] Los resultados intraseriales y de precisión total se determinan evaluando dos niveles de material testigo.

Tabla 4: Precisión (N = 80)

Electrolitos	Intraserial	Total
Alanina aminotranferasa (U/l)		
Nivel de referencia 1		
Media	21	21
DE	2,76	2,79
% VR	13,4	13,5
Nivel de referencia 2		
Media	52	52
DE	2,70	3,25
% VR	5,2	6,2
Albúmina (g/dl)		
Nivel de referencia 1		
Media	5,6	5,6
DE	0,09	0,11
% VR	1,7	2,1
Nivel de referencia 2		
Media	3,7	3,7
DE	0,07	0,11
% VR	2,0	2,9
Fosfatasa alcalina (U/l)		
Nivel de referencia 1		
Media	39	39
DE	1,81	2,29
% VR	4,6	5,8
Nivel de referencia 2		
Media	281	281
DE	4,08	8,75
% VR	1,5	3,1
Amilasa (U/l)		
Nivel de referencia 1		
Media	46	46
DE	2,40	2,63
% VR	5,2	5,7
Nivel de referencia 2		
Media	300	300
DE	11,15	11,50
% VR	3,7	3,8
Aspartato aminotransferasa (U/l)		
Nivel de referencia 1		
Media	47	49
DE	0,98	0,92
% VR	2,07	1,88
Nivel de referencia 2		
Media	145	147
DE	1,83	1,70
% VR	1,26	1,16

Tabla 4: Precisión (N = 80) (continuación)

Electrolitos	Intraserial	Total
Gamma-Glutamiltransferasa (U/l)		
Nivel de referencia 1		
Media	25	25
DE	0,59	0,74
% VR	2,34	2,94
Nivel de referencia 2		
Media	106	106
DE	1,52	2,29
% VR	1,43	2,15
Bilirrubina total (mg/dl)		
Nivel de referencia 1		
Media	0,8	0,8
DE	0,06	0,07
% VR	8,0	9,3
Nivel de referencia 2		
Media	5,2	5,2
DE	0,09	0,15
% VR	1,7	2,8
Proteínas totales (g/dl)		
Nivel de referencia 1		
Media	6,8	6,8
DE	0,05	0,08
% VR	0,8	1,2
Nivel de referencia 2		
Media	4,7	4,7
DE	0,09	0,09
% VR	2,0	2,0

Correlación

Las muestras de suero y de sangre entera heparinizadas de los pacientes se extrajeron de dos sitios. Las muestras de sangre entera fueron analizadas por el analizador químico de sangre Piccolo en los sitios de campo y las muestras de suero fueron analizadas por el analizador Piccolo y por métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Todas las muestras fueron probadas en singlicato el mismo día. En la tabla 5 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 5: Correlación del analizador químico de sangre Piccolo con el método de comparación

	Sangre entera	
	Lab 1	**Lab 2**
Alalina aminotransferasa (U/l)		
Correlación	0,98	0,99
Pendiente	0,91	0,94
Intercepta	1,3	–2,5
VER	3,21	2,84
N	86	67
Rangos de la muestra	10-174	10-174
Método de comparación	Paramax®	Technicon
Albúmina (g/dl)		
Correlación	0,85	0,90
Pendiente	1,0	0,88
Intercepta	–0,3	–0,1
VER	0,22	0,21
N	261	100
Rangos de la muestra	1,1-5,3	1,5-5,0
Método de comparación	Paramax®	Beckman
Fosfatasa alcalina (U/l)		
Correlación	0,99	0,93
Pendiente	0,97	1,14
Intercepta	–5,9	–17,6
VER	3,97	4,79
N	99	80
Rangos de la muestra	27-368	26-150
Método de comparación	Paramax®	Technicon
Amilasa (U/l)		
Correlación	0,98	0,96
Pendiente	0,69	1,07
Intercepta	–4,7	–4,1
VER	3,11	3,47
N	99	80
Rangos de la muestra	11-92	19-118
Método de comparación	Paramax®	Technicon
Aspartato aminotransferasa (U/l)		
Correlación	0,93	1,0
Pendiente	0,87	0,97
Intercepta	5,3	3,0
VER	2,76	1,90
N	159	46
Rangos de la muestra	13-111	13-252
Método de comparación	Paramax®	DAX™
Gamma-Glutamiltransferasa (U/l)		
Correlación	1,0	1,0*
Pendiente	0,98	1,60*
Intercepta	–0,4	3,1*
VER	3,29	18,57*
N	135	49
Rangos de la muestra	5-312	27-1848
Método de comparación	Paramax®	Beckman

Tabla 5 continuación: Correlación del analizador químico de sangre Piccolo con métodos correlativos

	Sangre entera	
	Lab 1	**Lab 2**
Bilirrubina total (mg/dl)		
Correlación	0,97	0,98
Pendiente	0,90	1,11
Intercepta	0,0	–0,4
VER	0,07	0,09
N	250	91
Rangos de la muestra	0,2-3,7	0,1-6,4
Método de comparación	Paramax®	Beckman
Proteínas totales (g/dl)		
Correlación	0,85	0,87
Pendiente	0,93	0,94
Intercepta	0,6	0,3
VER	0,19	0,16
N	260	92
Rangos de la muestra	5,7-9,2	6,5-9,2
Método de comparación	Paramax®	Beckman

*El laboratorio 2 sólo evaluó suero en el analizador Piccolo para la correlación de la prueba de la gamma-glutamiltransferasa.

Resultados de un estudio con usuarios sin preparación
Se llevó a cabo un estudio con "usuarios sin preparación", en el que los participantes, únicamente con las instrucciones del análisis que se les proporcionaban, debían analizar tres discos con muestras aleatorizadas a ciegas. Las muestras se prepararon a base de suero con tres niveles de cada uno de los ocho analitos, ALT, albúmina, ALP, AMY, AST, GGT, bilirrubina total y proteína total. Los participantes no tenían ninguna formación en la realización del análisis. Se reclutaron en total aproximadamente 60 participantes de 3 centros, que constituían una población suficientemente diversa (estudios, edad, sexo, etc.) a efectos demográficos.

En las tablas siguientes se muestra un resumen del rendimiento de cada analito.

Alanina aminotransferasa (ALT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
% VR	3,7%	1,7%	1,5%
Intervalo observado	42 – 53	96 – 103	175 – 191
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%*	98,4% 61/62 95% IC: 91,3% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

* Este porcentaje está basado en el supuesto de que es imposible distinguir correctamente entre valores normales y anormales cuando el error es mayor de una cuarta parte de intervalo normal. Se utilizó el intervalo (10 U/l - 47 U/l).

Albúmina (ALB)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,0 g/dl	3,5 g/dl	4,2 g/dl
% VR	2,7%	2,5%	1,8%
Intervalo observado	2,9 – 3,2	3,3 – 3,7	4,0 – 4,4
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 12,5%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Fosfatasa alcalina (ALP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,5 U/l	171,5 U/l	337,5 U/l
% VR	5,2%	3,2%	2,4%
Intervalo observado	85 – 106	160-184	287 – 388
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Amilasa (AMY)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	72,1 U/l	126,9 U/l	260,0 U/l
% VR	2,4%	2,1%	1,9%
Intervalo observado	67 – 75	120 – 133	248 – 273
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferasa (AST)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
% VR	2,4%	1,1%	1,0%
Intervalo observado	54 – 60	117 – 124	266 – 285
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Gamma glutamiltransferasa (GGT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	35,0 U/l	86,2 U/l	131,3 U/l
% VR	2,8%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	33 – 38	83 – 90	123 – 135
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Bilirrubina total (TBIL)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,86 mg/dl	2,5 mg/dl	5,7 mg/dl
% VR	6,1%	2,6%	1,8%
Intervalo observado	0,8 – 1,0	2,3 – 2,6	5,4 – 5,9
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

Proteína total (TP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dl	5,7 g/dl	7,1 g/dl
% VR	2,0%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 5,9%	98,4% 61/62 95% IC: 91,3% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

13. Bibliografía

1. Tonhazy, NE, NG White and WW Umbreit. 1950. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 28: 36-42.
2. Reitman, S and S Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transminases. Am J Clin Pathol 28: 56-63.
3. Murray, RL. 1989. Alanine aminotransferase. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 895-898.
4. Wróblewski, F and JS LaDue. 1956. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 91: 569-571.
5. Bergmeyer, HU and M Hørder. 1980. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 18: 521-534.
6. Howe, PE. 1921. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 49: 93-107.
7. Howe, PE. 1921. The determination of proteins in blood—a micro method. J Biol Chem 49: 109-113.
8. Wolfson, WQ, C Cohn, E Calvary and F Ichiba. 1948. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 18: 723-730.
9. Saifer, A, S Gerstenfeld and F Vacsler. 1961. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 7: 626-636.

13. Bibliografía (continuación)

10. Saifer, A and T Marven. 1966. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 12: 414-417.
11. Gendler, SM. 1989. Albumin. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp.1029-1033.
12. Webster, D, AHC Bignell and EC Attwood. 1974. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 53: 101-108.
13. Louderback, A, EH Mealey and NA Taylor. 1968. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell, AE and BE Northam. 1978. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 24: 80-86.
15. King, EJ and AR Armstrong. 1934. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J 31: 376-381.
16. Kind, PRN and EJ King. 1954. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. 1937. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia 4: 217-231.
18. Fujita, H. 1939. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 30: 69-87.
19. Petitclerc, C, M Delisle, M Martel, C Fecteau and N Brière. 1975. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 53: 1089-1100.
20. Tietz, NW, CA Burtis, P Duncan, K Ervin, CJ Petitclerc, AD Rinker, D Shuey and ER Zygowicz. 1983. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 29: 751-761.
21. Bowers, GN, Jr, HU Bergmeyer, M Hørder and DW Moss. 1979. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 98: 163F-174F.
22. McNeely, MDD. 1989. Amylase. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 906-909.
23. Zinterhofer, L, L Wardlaw, P Jatlow and D Seligson. 1973. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta 43: 5-12.
24. Centros para el control de enfermedades. 1975. Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; nov, 1975.
25. Somogyi, M. 1960. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 6: 23-35.
26. Gillard, BK, HC Markman and SA Feig. 1977. Direct spectrophotometric determination of a-amylase activity in saliva, with *p*-nitrophenyl α-maltoside as substrate. Clin Chem 23: 2279-2282.
27. Wallenfels, K, P Földi, H Niermann, H Bender and K Linder. 1978. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 61: 359-368.
28. Karmen, A. 1955. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 34: 131-133.
29. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, M Hørder and DW Moss. 1977. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 23: 887-899.
30. Ball, EG, JP Revel and O Cooper. 1956. The quantitative measurement of γ-glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 221: 895-908.
31. Goldbarg, JA, OM Friedman, EP Pineda, EE Smith, R Chatterji, EH Stein and AM Rutenburg. 1960. The colorimetric determination of γ-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 91: 61-70.
32. Orlowski M and A Meister. 1963. γ-Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D-γ-glutamyltranspeptidase activities. Biochim Biophys Acta 73: 679-681.
33. Persijn, JP and W van der Slik. 1976. A new method for the determination of γ-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 18: 421-427.
34. Shaw, LM, JH Stromme, JL London and L Theodorsen. 1983. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ-glutamyltransferase J Clin Chem Clin Biochem 18: 633-646.
35. Meites, S. 1982. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *In:* WR Faulkner and S Meites, comps., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; pp. 119-124.
36. Koller, A and LA Kaplan. 1989. Total serum protein. *In:* LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 1057-1060.
37. Reigler, E. 1914. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 53: 242-245.

13. Bibliografía (continuación)

38. Weichselbaum, TE. 1946. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 16: 40-49.
39. Doumas, BT, DD Bayse, RJ Carter, T Peters Jr and R Schaffer. 1981. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 27: 1642-1650.
40. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2º ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
42. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 34: 2111-2114.
43. Balistreri, WF and R Rej. 1994. Liver function. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; p. 1466.
44. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
45. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *In:* AG Gilman, TW Rall, AS Nies and P Taylor, comps., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.
46. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.
47. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.
48. Painter, PC, JY Cope and JL Smith. 1994. Appendix. *In:* CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2nd ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; p. 219.
51. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 34: 2111-2114.
52. Henry, RJ, DC Cannon, and JW Winkelman. 1974. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row; pp. 417-421; 1058-1059
53. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr, and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
54. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. In: AG Gilman, TW Rall, AS Nies, and P Taylor, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.
55. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.
56. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.
57. Painter, PC, JY Cope, and JL Smith. 1994. Appendix. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.
58. Young, DS. 1990. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press.
59. Young, DS. 1991. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 1991 supplement to the third edition. Washington, DC: AACC Press.
60. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, 2nd ed.; Tentative Guideline. NCCLS document EP5-T2. Villanova, PA: NCCLS.